

6. Baker R. C., Goff J. P.: Poultry Sci. 59, 289, 1980.
7. Barrow P. A., Huggins M. B., Lovell M. A., Simpson J. M.: Res. vet. Sci. 42, 194, 1987.
8. Barrow P. A., Simpson J. M., Lovell M. A.: Avian Path. 17, 571, 1983.
9. Barrow P. A., Tucker J. F., Simpson J. M.: Epidem. Inf. 98, 311, 1987.
10. Bećirević M., Popović M.: Veterinaria, Saraj. 35, 355, 1986.
11. Bećirević M., Popović M., Bećirević N.: Veterinaria, Saraj. 35, 319, 1986.
12. Board R. G.: J. Appl. Bact. 27, 350, 1964.
13. Cor M. A., Davis B. M., Watts A. B., Celmer A. R.: Poultry Sci. 52, 661, 1973.
14. Dorn P.: Problem salmonelozy u kurcząt typu mięsnego, Weterynaria, Wrocław (w druku).
15. Forsythe R. H., Ross W. J., Ayres J. C.: Poultry Sci. 46, 849, 1967.
16. Goren E., De Jong W. A., Doornebal P., Bolder N. M., Mulder R. W., A. W., Jansen A.: Vet. Quart. 10, 249, 1988.
17. Heller E. D.: Res. vet. Sci. 18, 117, 1975.
18. Hinton M., Linton A. H.: Vet. Rec. 123, 416, 1988.
19. Hutt F. B., Crawford R. D.: Can. J. Genet. Cytol. 21, 357, 1960.
20. Ilescas J. M.: Zum Verkommen von Salmonellen dem Transport von Eintageküken, praca dokt., Giessen, 1982.
21. Kuapiński J. B.: Methods of serological research, John Wiley and Sons Inc., New York — Sydney, 1975.
22. Linton A. H., Al-Chalaby Z. A. M., Hinton M. H.: Vet. Rec. 116, 361, 1985.
23. Mazurkiewicz M., Latała A., Wieliczko A., Zaleski A., Giebel O.: Medycyna et. 44, 714, 1988.
24. Milner K. C., Shaffer M. F.: J. Infect. Dis. 90, 81, 1952.
25. Olesniak O. M., Carlson V. L., Snoeyenbos G. H., Smyser C. F.: Avian Dis. 13, 500, 1969.
26. Rao V., Chauhan H. V. S.: Res. vet. Sci. 42, 287, 1987.
27. Rudy A.: Medycyna Wet. 42, 73, 1986.
28. Sadler W. W., Brownell J. R., Faneli M. J.: Avian Dis. 13, 793, 1969.
29. Schleifer J. H., Juven B. J., Beard C. W., Cor N. A.: Avian Dis. 28, 497, 1984.
30. Smith H. W.: J. Comp. Path. 65, 37, 1955.
31. Smith H. W., Tucker J. F.: J. Hyg. Camb. 80, 217, 1976.
32. Smith H. W., Tucker J. F.: J. Hyg. Camb. 84, 479, 1980.
33. Soerjadi A. S., Druitt J. H., Lloyd A. B., Cumming R. B.: Aust. vet. J. 55, 413, 1979.
34. Thaxton P., Wyatt R. D., Hamilton P. B.: Poultry Sci. 50, 1636, 1971.
35. Williams J. E.: Am. J. vet. Res. 36, 591, 1975.
36. Williams J. E., Benson S. T.: Avian Dis. 22, 742, 1978.
37. Williams J. E., Whittemore A. D.: Appl. Microbiol. 23, 931, 1972.
38. Xu Y. M., Pearson G. R., Hinton M.: Br. vet. J. 144, 403, 1988.

Adres autora: prof. dr hab. Michał Mazurkiewicz, ul. Popowicka 104/7, 54-238 Wrocław

ZDZISŁAW GLIŃSKI, JAN JAROSZ *

Rola oksydazy polifenolowej w odporności przeciwzakaznej owadów

Instytut Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Weterynaryjnego AR,
ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin
* Zakład Patologii Owadów Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi UMCS,
ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

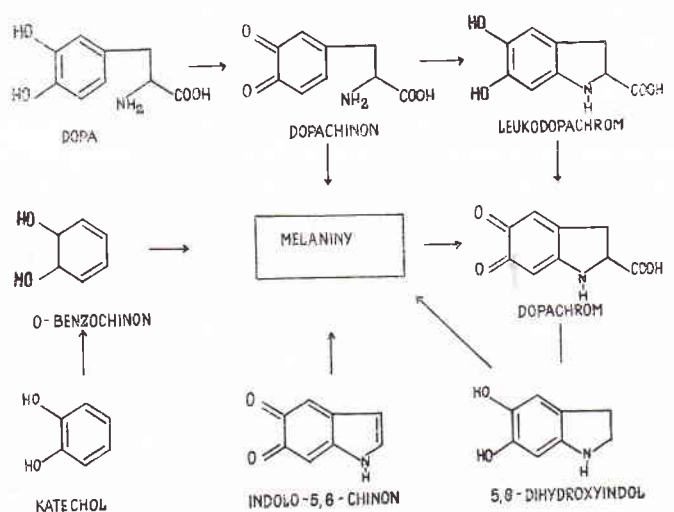
Obrona organizmu przed zakażeniem jest zjawiskiem niezwykle złożonym, w którym istotną rolę odgrywa układ immunologiczny. Tworzą go różne komórki ściśle współdziałające ze sobą zarówno przez bezpośredni kontakt, jak i wydzielane substancje o działaniu obronnym. Odkrycie, że w obronie owadów przed zakażeniem oprócz reakcji analitycznych do występujących u ssaków są zaangażowane specyficzne dla tej grupy zwierząt mechanizmy odpornościowe, pozwoliło na zrozumienie roli czynników warunkujących humoralne reakcje obronne owada (4). Należą do nich oprócz lizozymu (32, 37), cekropiny (15, 21), attacyny (3), dipterycyny (28) oraz inne drobnocząsteczkowe białka względnie polipeptydy (2). Rola tych ostatnich w odporności przeciwzakaznej owada nie jest w pełni wyjaśniona.

Względnie niski natywny poziom lizozymu w hemolimfie owadów (12) zwiększa się szybko po zakażeniu bądź indukcji przez czynniki abiotyczne, co umożliwia ograniczenie a w niektórych przypadkach nawet likwidację, zakażeń wywołanych przez bakterie gram dodatnie (25, 26). Cekropiny i attacyny, przynajmniej u *Lepidoptera*, a prawdopodobnie także i u *Diptera*, są głównymi substancjami indukowanymi w organizmie owadów, które warunkują przeciwzakazną odporność humoralną skierowaną zarówno przeciw bakteriom gram ujemnym, jak i gram dodatnim (13). U pszczoł podobną do nich rolę, zwłaszcza w stosunku do bakterii gram ujemnych, wydają się pełnić apicydyny, niskocząsteczkowe polipeptydy o masie 2–3 Kd, które pojawiają się w hemolimfie czerwia i imago *Apis mellifera* po kontakcie z czynnikami biotycznymi, jakimi są bakterie (8).

Rola oksydazy polifenolowej — enzymu, który u kręgowców jest zaangażowany w syntezie melaniny, jest udokumentowana w pełni w kilku procesach metabolicznych o podstawowym znaczeniu dla rozwoju owada, jak: twardnienie i ciemnienie kutikuli, metamorfoza lub odtoksyczenie związków fenolowych (49). Nagromadzono też przekonywujące dane o udziale tego enzymu w odporności, zwłaszcza w rozpoznawaniu substancji obcych (non self) dla organizmu owada (49), o współdziałaniu oksydazy polifenolowej w fagocytozie (5, 31), inkapsulacji i nodulacji, a także w

wywoływaniu inkapsulacji humoralnej (53). Istnieją przy tym sugestie wskazujące na uszkodzające działanie na niektóre gatunki drobnoustrojów (18) chinonów, które są produktami powstającymi w szlakach przemian inicjowanych przez ten enzym (53). Mniej danych dotyczy udziału oksydazy polifenolowej w hamowaniu pewnych etapów procesu nowotworowego w organizmie owadów (14).

Oksydaza polifenolowa (EC 1, 10, 3, 1; fenolaza, tyrozy-naza, o-dwufenyl 1 : O₂ oksydoreduktaza) należy do metaloprotein zawierających żelazo i miedź jako kofaktory. Bierze ona udział w pierwszych etapach szlaków metabolicznych w konwersji tyrozyny w prekursor melanin katecholowych i indolowych (19) (ryc. 1). U większości stawonogów enzym ten występuje w hemocytach (10), z reguły w formie nieaktywnego proenzymu (profenyloksydaza, proPO). Aktywacja proPO może zachodzić pod wpływem proteaz (11, 48), lipidów (20), rozpuszczalników nieorganicznych (38),



Ryc. 1. Szlaki biosyntezy melaniny (19)

detergentów (23), niektórych składników komórek bakterii i grzybów, a także związanych polisacharydów (55). Działanie blokujące na układ proPO wywierają natomiast niektóre białka hemolimfy, a w pewnym zakresie także jej siła jonowa (33). Ashida i wsp. (1, 56) oczyszczili proPO z *Bombyx mori* i wykazali, że oczyszczony proenzym o masie 80×10^3 d jest prawdopodobnie dimerem. Jest on aktywowany przez specyficzną proteinazę seryny, określaną często jako enzym aktywujący proPO (PPAE). Aktywację PPAE w hemolimfie poprzedza działanie innego enzymu seryny (56), które mogą zapoczątkować bakteryjne peptydoglikany. Tego działania nie wywierają bakteryjne lipopolisacharydy. W następstwie działania enzymu aktywującego uwalnia się z każdej podjednostki proPO peptyd o masie 5×10^3 d. Fenylooksydaza powstała w wyniku oksydacji powiększa swoją masę. I tak oczyszczona fenylooksydaza z *Musca domestica* ma masę około 340×10^3 , podczas gdy enzym ten w formie spoczynkowej posiada masę 178×10^3 d (54). Dokładniej poznano oksydazy polifenolowe występujące w hemolimfie *Drosophila* i *Calliphora erythrocephala* (47). Hemolimfa *Drosophila* zawiera trzy rodzaje proPO, z których dwie o zbliżonej ruchliwości elektroforetycznej katalizują utlenianie DOPA, zaś trzecia różniąc się ruchliwością elektroforetyczną katalizuje utlenianie zarówno DOPA, jak i tyrozyny. U *Calliphora* pod koniec trzeciego stadium larwalnego pojawiają się w hemolimfie dwie proPO. Jedna z nich po aktywacji katalizuje utlenianie DOPA i tyrozyny, przy czym konwersja tyrozyny prowadzi do powstania dwufenoli aktywnych w oskórku podczas przepoczwarczenia. Druga tyrozynaza katalizuje wyłącznie utlenianie l-DOPA. Ze względu na zaangażowanie w określonych procesach wyróżniono kilka klas oksydaz polifenolowych, między innymi fenolazy aktywne w twarzeniu oskórka, zaangażowane w tworzeniu melaniny lub aktywowane przez zranienia. W odczynach odpornościowych nie można wykluczyć udziału żadnej z tych klas.

Sklerotyzacja i ciemnienie oskórka

Oskórek owada, który po wylince jest miękki i zabarwiony na biało, podobnie jak szkielec zewnętrzny młodych imago, w efekcie sklerotyzacji twardnieje po kilku godzinach. Proces twarzenia oskórka kontrolowany przez hormon bursykon jest wynikiem reakcji między białkami wchodzącymi w skład oskórka i o-benzochinonami pochodnymi o-dwuhydrofenoli (17). O-chinony powstają w szlaku metabolicznym hydroksylacji tyrozyny do N-acetylodopaminy, która pod wpływem oksydazy polifenolowej utlenia się do o-chinonu (ryc. 2). O-chinony (O-benzochinony) reagują początkowo z grupami aminowymi i sulfhydrylowymi białek względnie grupą aminową lizyny, tworząc początkowo białka N-katecholowe, które przy nadmiarze chinonów ulegają utlenieniu do białek N-chinoinowych. Te białka reagując z kolei z grupami aminowymi lub sulfhydrylowymi mogą dawać pochodne dwupodstawne, co w efekcie prowadzi do twarzenia oskórka (40). Stwardniały oskórek jest silną barierą chroniącą środowisko wewnętrzne owada przed zakażeniem.

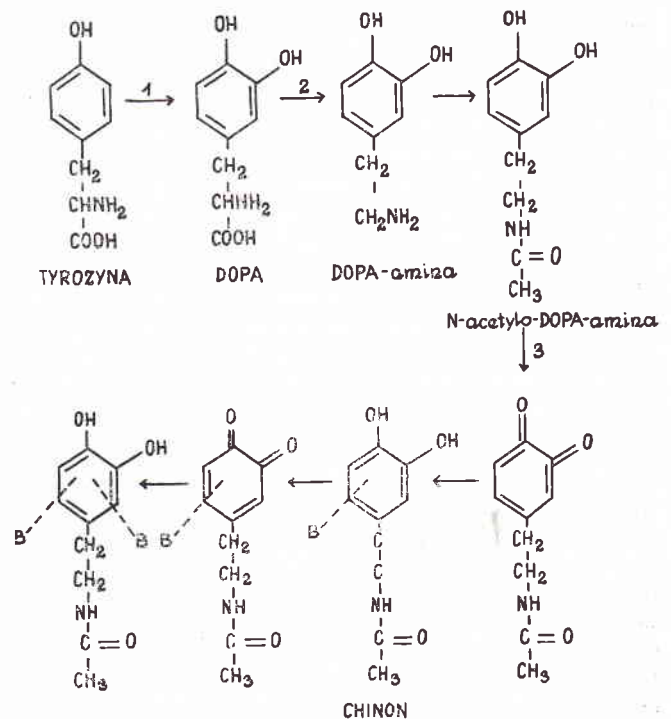
Oksydaza polifenolowa występująca w hemolimfie w formie proenzymu jest aktywowana przez substancje zawarte w oskórku owada. U niektórych owadów (*Bombyx mori*) fenylooksydaza występuje w oskórku jako laktaza. Enzym ten obecny w postaci trzech izoenzymów o masie 60–70 Kd, katalizuje utlenianie p-fenyldwuaminy.

Ciemnienie oskórka owadów ma miejsce bądź w procesie jego sklerotyzacji lub zachodzi podczas melanizacji. Zarówno eumelaniny, jak i allomelaniny (melaniny katecholo-

we) powstają w szlaku oksydacji — polimeryzacji tyrozyny. Oksydaza polifenolowa zapoczątkowuje ciąg reakcji prowadzących do powstania eumelanin z DOPA i allomelanin z pochodnych katecholowych. Zarówno jedne, jak i drugie tworzą *in vivo* połączenia z białkami oskórka zabarwiające go na czarno (eumelaniny) lub w kolorze od złotego do czerwono-brązowego (melaniny katecholowe). Melaniny katecholowe występują w stanie zdyspersowanym, podczas gdy eumelaniny tworzą mikroskopowej wielkości ziarnistości. Wydaje się, że w procesie melanizacji przejście oksydazy polifenolowej z formy nieaktywnej w aktywną zachodzi pod wpływem czynnika powstającego w wyniku odpowiedzi na działanie ekdyzonu (27). Powstała w procesie ciemnienia oskórka melanina uszczelnia szkielec owada.

Melanizacja krwi owada w obecności tlenu jest też efektem działania oksydazy polifenolowej na związki fenolowe hemolimfy. W tym procesie u *Diptera* są zaangażowane komórki sferyczne, u innych grup owadów encytoidy. U *Drosophila* tyrozyna występuje w komórkach sferycznych w postaci krystalicznych wtrętów, podczas gdy tyrozynaza jest związana z mitochondriami lub mikrosomami. Uszkodzenie tych komórek umożliwia kontakt substratu z enzymem, co inicjuje kaskadę reakcji, które prowadzą w obecności tlenu do powstania melaniny (42).

Odrębnego omówienia wymagają relacje między nasileniem odporności a stopniem zahamowania melanizacji hemolimfy. Fakt, że u owadów melanizacja towarzyszy reakcjom obronnym jest znany od dawna (5). Obserwacje o braku melanizacji krwi lub o zwolnieniu tego procesu u immunizowanych larw *Galleria mellonella* (51) stanowiły podstawę do wnioskowania o istnieniu zależności między czasem melanizacji hemolimfy a nasileniem odporności nabytej (57). Proces zahamowania melanizacji starano się wyjaśnić inhibicją proPO uwalnianą z hemocytów przez jej inhibitor zawarty w hemolimfie. Poziom proPO w hemocytach immunizowanych larw *Galleria mellonella* obniża się do 55% wartości notowanej u larw nieimmunizowanych (45). Dzięki



Ryc. 2. Szlak metaboliczny prowadzący do sklerotyzacji i ciemnienia oskórka (40). 1 — hydroksylaza, 2 — dekarboksylaza, 3 — oksydaza wielofenolowa, B — białko

obecności inhibitora w hemolimfie zostaje włączony mechanizm samoobrony (self protecting mechanism) chroniący tkanki owada przed wpływem toksycznych produktów, które pojawiają się w procesie melanizacji. Szybka, ponowna aktywacja proPO, która zachodzi pod wpływem zewnątrzkomórkowych proteaz patogenów bakteryjnych świadczy o włączeniu oksydazy polifenolowej w procesy warunkujące odporność owada. Natomiast szkoła reprezentowana przez Bomana (14) neguje istnienie, przynajmniej u poczwarek *Hyalophora cecropia*, istnienie korelacji między aktywnością oksydazy polifenolowej i odpornością.

Oksydaza polifenolowa w rozpoznawaniu substancji obcych

Podstawowym warunkiem uruchomienia całej kaskady reakcji obronnych, które prowadzą w efekcie do zniszczenia, usunięcia lub sekwestracji substancji obcej (non self) w organizmie jest jej odróżnienie od składników własnych ustroju. U kręgowców wyższych warunkiem uruchomienia odpowiedzi immunologicznej jest obecność w ustroju limfocytów immunologicznie kompetentnych, zdolnych do rozpoznania antygeny. Limfocyty B rozpoznają antygen konwencjonalny poprzez receptory immunoglobulinowe, zaś limfocyty T pomocnicze (Th) rozpoznają go jedynie w postaci związanej z komórkami prezentującymi antygen. Również u owadów zasadniczą rolę w rozpoznawaniu składników obcych od własnych odgrywają niektóre typy krwinek, prawdopodobnie hemocyty ziarniste (45). W systemie dwustopniowego rozpoznawania substancji obcych przez hemocyty owada zaprezentowanego przez Lackie (30), proces ten w przypadku substancji abiotycznych odbywa się dzięki właściwościom fizyko-chemicznym ich powierzchni, podczas gdy rozpoznawanie cząsteczek biotycznych, takich jak drobnoustroje i przeszczepy, jest możliwe dzięki obecności specyficznych receptorów w ich strukturach zewnętrznych. Hipoteza ta nie zakłada w swojej istocie udziału układu oksydazy polifenolowej i melanizacji w rozpoznawaniu substancji obcych. Nie tłumaczy ona jednakże, dlaczego wiele substancji obojętnych chemicznie (nylon, ziarna polidekstranu, cząsteczki tuszu chińskiego) są rozpoznawane jako składniki obce dla organizmu owada. Rolę układu oksydazy polifenolowej i melaniny jako jednego z podstawowych produktów końcowych procesów katalizowanych przez ten układ enzymatyczny w rozpoznawaniu substancji własnych (self) od obcych (non self) oparto na obserwacjach wskazujących na powinowactwo oksydazy polifenolowej do powierzchni substancji obcych (5, 16, 22, 31, 52). Pod jej wpływem na powierzchni substancji obcych odkłada się melanina, która prawdopodobnie pełni rolę markera odróżniającego self od non self. Ponadto melanina inicjuje sama, bądź we współdziałaniu z oksydazą polifenolową, proces adhezji ciał obcych do hemocytów pobudzając ziarniste hemocyty do wydzielania lepkich białek (sticky proteins), a także może ona pełnić rolę opsonin w procesie fagocytozy. Składniki ściany komórek bakterii gram dodatnich i gram ujemnych aktywują oksydazę polifenolową hemolimfy w sposób identyczny do beta 1,3-glukanów występujących w ścianie komórek grzybów. Dzięki tej aktywacji zostaje zainicjowana fagocytoza i inkapsulacja, bądź ulega ona wzmożeniu. Inhibitory fenyllooksydazy, jak fenylotiomocznik lub zredukowany glutation, hamują reakcje obrony komórkowej w organizmie owada. Na takie działanie hamujące wskazują badania Brewer i Winson (5) u *Heliothis zea*, a także badania Nappi (34) u *Drosophila melanogaster*. Natomiast aktywatory układu proPO zwiększają fagocytozę bakterii u *Galleria mellonella* (39). Taką rolę pełni laminaryna i lipopolisacharyd bakterii gram ujemnych. Efekt ten jest następstwem wy-

dzielenia lepkich białek przez ziarniste hemocyty (1). Być może lepkie białka pełnią też rolę nośników sygnałów rozpoznawczych (foreignness recognition signals), które, pobudzają hemocyty osiadłe do migracji i agregacji wokół obcych substancji, a także uaktywniają hemocyty w takich reakcjach obronnych jak fagocytoza, inkapsulacja i nodulacja.

Układ oksydazy polifenolowej w reakcjach odporności komórkowej

Rozpoznanie self od non self zapoczątkowuje trzy podstawowe mechanizmy odporności komórkowej owada: fagocytozę, inkapsulację i nodulację. Udział oksydazy polifenolowej w rozpoznawaniu i melanizacji jest uznawany. Także w dalszych etapach komórkowych reakcji odpornościowych, a również w procesie reparacji ran, które stanowią u owadów jedno z głównych wrót zakażenia, oksydaza polifenolowa bierze aktywny udział. Końcowy produkt działania tego enzymu, melanina, odkładając się wokół bakterii i pasożytów zarówno w otoczkach, jak i melanotycznych guzkach sekwestruje je ściśle od środowiska wewnętrznego owada. Na uwagę zasługuje przy tym fakt, że sama melanina wywiera działanie fungistatyczne (50), hamuje aktywność chitynaz i proteaz drobnoustrojowych (6, 29), zaś jeden z jej prekursorów 5,6-dihydroksyindol oprócz aktywności fungistatycznej wykazuje działanie cytostatyczne (50, 53). Taylor (53) przypisuje polifenolom powstającym w efekcie działania oksydazy polifenolowej rolę bakteriocydyn.

Chociaż oksydaza polifenolowa nie uczestniczy w inicjacji kontaktu substancji obcej z hemocytom obdarzonym zdolnością fagocytowania, to przypuszcza się, że bierze ona aktywny udział w opsonizacji (5) zwiększając tym samym efektywność pochłaniania bakterii przez fagocyty. Bezdyskusyjny jest natomiast udział tego enzymu w inkapsulacji melanotycznej, nodulacji, inkapsulacji humoralnej oraz w procesach odkładania melaniny i substancji melaninopodobnych na nieinkapsulowanych pasożytach. W tym ostatnim przypadku melanina odkładając się w miejscach naturalnych otworów ciała pasożyta (jama gębowa, odbył) powoduje zaburzenia jego prawidłowych funkcji, co często prowadzi do śmierci pasożyta. Czy odładowanie melaniny wzdłuż intersegmentalnych połączeń ciała pasożytów lub na całej ich powierzchni w nieregularny sposób może prowadzić do upośledzenia funkcji życiowych pasożyta — nie zostało udowodnione.

W inkapsulacji melanotycznej melanina i substancje melaninopodobne odkładają się w wewnętrznej warstwie otoczki. Nasilenie tego procesu, jak również charakter odłożonych substancji może być różny. Tempo melanizacji otoczki jest uzależnione od rodzaju gospodarza. Melanizacja występuje po 24 godz. u *Carausius* po inwazji *Nemeritis canescens* (44), po 48 godz. u *Calliphora erythrocephala* i po 24—96 godz. u *Diataraxia*. U niektórych gatunków owadów melanizacja w stosunku do pewnych pasożytów może się opóźnić o kilka dni.

Ściana kapsuły stanowi trudno przepuszczalną barierę dla gazów, substancji odżywczych i produktów przemiany materii, co powoduje zamieranie żywych inkapsulowanych obiektów na skutek braku tlenu, nagromadzenia produktów przemiany materii wewnątrz kapsuły lub szoku osmatycznego. Odłożona w ścianie kapsuły melanina w procesie inkapsulacji melanotycznej uszczelnia bardzo dokładnie jej ścianę, co razem z powstającymi w procesie melanizacji chinonami przyspiesza śmierć pasożytów i całkowicie hamuje rozwój zarodków pasożytów w jajach (34, 36, 43). Melanizacji podlegają z reguły kapsuły typu balteata, cienkościennie o ścianie złożonej z kilku warstw silnie zmelani-

zowanych hemocytów. Natomiast w otoczkach typu ribesia, których ściana składa się z kilkudziesięciu warstw hemocytów, melanizacja nie zawsze występuje, przy czym jej nasilenie jest niewielkie.

Oprócz odkładania melaniny w ścianie kapsuł i w guzkach (7) może występować melanizacja humoralna. W tym ostatnim procesie pojawia się melanotyczna otoczka wokół pasożyta przy braku współdziałania elementów upostaciowionych hemolimfy. Melanizacja humoralna występuje wokół strzępek *Erynia radicans* i *Metarrhizium anisopliae* po 4–6 godz. po ich wnikięciu do jamy ciała *Empoasca fabae*.

Przekroczenie stężenia granicznego drobnoustrojów w hemolimfie, które jest charakterystyczne dla danego gatunku owada, uruchamia mechanizm odporności komórkowej wspomagający fagocytozę, jakim jest tworzenie guzków (nodulacja). Typowy guzek składa się z ziarnistych znekrotyzowanych hemocytów wtopionych w bezstrukturalną matrix przepojoną melaniną. Całość otacza kapsuła o ścianie zbudowanej ze spłaszczonych hemocytów. Bakterie giną w guzku na skutek działania stresu fizjologicznego, bądź pod wpływem substancji przeciwbakteryjnych (chinony), które pojawiają się w guzkach w procesie ich melanizacji (9, 46).

Udział oksydazy polifenolowej w hamowaniu procesu nowotworowego

U owadów guzy melanotyczne, często o charakterze wrodzonym, są efektem inkapsulacji zmienionej nowotworowo tkanki tłuszczowej przez plazmatocyty z następującą melanizacją tak powstałych tworów. Uważa się (35), że tworzenie nacieku hemocytarnego wokół patologicznie zmienionych komórek ciała tłuszczowego, a także formowanie kapsuły zachodzi na skutek zmian w charakterze receptorów na powierzchni komórek ciała tłuszczowego. Nie wyklucza się też możliwości sekrecji substancji o działaniu chemotaktycznym przez zmienione chorobowo komórki. Aktywne w tym procesie oprócz plazmatocytów „komórki krystaliczne” wydzielają prekursor melaniny, które powodują melanizację inkorporowanej do kapsuły tkanki nowotworowej. Proces melanizacji zapoczątkowany w przestrzeniach międzykomórkowych w sąsiedztwie błon plazmatycznych złuzowanych hemocytów rozszerza się na obwód guza nowotworowego. U jednego z mutantów *Drosophila melanogaster* (35), w procesie tworzenia nowotworowych guzów melanotycznych o charakterze wrodzonym, melanizacja występuje po 96–102 godz. Impregnowanie inkapsulowanej tkanki nowotworowej melaniną nie tylko lokalizuje proces nowotworowy i zapobiega przerzutom nowotworu do innych tkanek i narządów. Powstałe w procesie melanizacji produkty o działaniu cytostatycznym hamują rozplam komórek nowotworowych w guzie, co w efekcie chroni organizm owada przed szybkim rozwojem choroby nowotworowej.

Piśmiennictwo

- Ashida M., Dohke K.: *Insect Biochem.* 10, 37, 1980.
- Boman H. G.: *Fortsch. Zool.* 27, 211, 1982.
- Boman H. G., Hultmark D.: *Trends Biochem. Sci.* 6, 306, 1981.
- Boman H. G., Hultmark D.: *A. Rev. Microbiol.* 41, 103, 1987.
- Brewer F. D., Vinson S. B.: *J. Invert. Pathol.* 18, 287, 1971.
- Bull A. T.: *Archs. Biochem. Biophys.* 137, 345, 1970.
- Butt T. M., Wraight S. P., Galaini K., Wright S., Humber R. A., Roberts D. W., Soper R. S.: *J. Invert. Pathol.* 52, 49, 1988.
- Casteels P. R., von Steenkiste D., Jacobs J. F.: The antibacterial response of haemolymph from adult honeybees (*Apis mellifera* L.) in relation to secondary infections. W *European Research on Varroa Control*, red. R. Cavallo, A. A. Balkema, Rotterdam, Brookfield 1988.
- Cawthorn R. J., Anderson R. S.: *Can. J. Zool.* 55, 368, 1977.
- Crossley A. C.: Biochemical and ultrastructural aspects of synthesis, storage and secretion in hemocytes, w *Insect Hemocytes*, red. A. P. Gupta, Cambridge Univ. Press, Cambridge 1979.
- Dohke K.: *Archs. Biochem. Biophys.* 157, 203, 1973.
- Dunn P. E., Drake D. R.: *J. Invert. Pathol.* 41, 77, 1983.
- Enström P., Carlsson E., Engström A., Tao Z. Jr., Bennich H.: *EMBO J.* 3, 3347, 1984.
- Faye J., Pye A., Rasmuson T., Boman H. G., Boman I. A.: *Inf. Immun.* 12, 1426, 1975.
- Flynn C., Dalhammer G., Rasmuson B., Boman H. G.: *Insect Biochem.* 17, 153, 1987.
- Gingrich R. D.: *J. Insect. Physiol.* 10, 1772, 1964.
- Gilmour D.: *The metabolism of insect*. Oliver and Boyd, Edinburgh 1965.
- Gliški Z., Jarosz J.: *Post. Mikrobiol. W druku.*
- Hackman R. H.: *Chemistry of insect cuticle*, w *The Physiology of Insecta*, red. M. Rockstein, t. 6, Academic Press, New York, London 1974.
- Heyneman R. A., Vercauteren R. E.: *J. Insect Physiol.* 14, 409, 1968.
- Hoffman D., Hultmark D., Boman H. G.: *Insect Biochem.* 11, 547, 1981.
- Hultmark D., Engstrom A., Bennich H., Kapur R., Boman H. G.: *Eur. J. Biochem.* 127, 207, 1982.
- Inaba T., Suetake Y., Funatsu M.: *Agric. Biol. Chem.* 27, 332, 1963.
- Inaba T., Namishira G., Kawano M., Funatsu M.: *Agric. Biol. Chem.* 42, 245, 1978.
- Jarosz J.: *Biol. Zentbl.* 98, 459, 1979.
- Kanost M. R.: The induction of lysozyme and other antibacterial hemolymph proteins in the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. *Praca dokt.* Purdue University West Lafayette, Indiana, 1983.
- Karlson P., Schweizer A.: *Z. Physiol. Chem.* 323, 199, 1961.
- Keppi E., Zachary D., Robertson M., Hoffmann D., Hoffmann J. A.: *Insect Biochem.* 16, 385, 1986.
- Kuo M. J., Alexander M.: *J. Bact.* 94, 624, 1967.
- Lackie A. M.: *Dev. Comp. Immunol.* 5, 191, 1981.
- Messner B.: *Zool. Jb. Physiol.* 75, 338, 1972.
- Mohring W., Messner B.: *Biol. Zentbl.* 87, 705, 1968.
- Namihira G., Ejima T., Inaba T., Funatsu M. A.: *Agric. Biol. Chem.* 43, 471, 1979.
- Nappi A. J.: *J. Invert. Pathol.* 16, 408, 1973.
- Nappi A. J.: *J. Invert. Pathol.* 43, 395, 1984.
- Pobiar G. O. Jr., Hess R. T., Peterson J. J.: *J. Nematol.* 11, 110, 1979.
- Poving R. F., Dawidson W.: *J. comp. Biochem. Physiol. B*, 55, 221, 1976.
- Preston J. W., Taylor R. L.: *J. Insect Physiol.* 16, 1729, 1970.
- Ratcliffe N. A., Leonard C., Rowley A. F.: *Science* 235, 557, 1984.
- Richards A. G.: *The chemistry of insect cuticle*, w *Biochemistry of Insects*, red. M. Rockstein, Academic Press, New York, San Francisco, London 1978.
- Rizki T. M.: *J. Morph.* 106, 147, 1960.
- Rizki M. T. M., Rizki R. M.: *J. biophys. Biochem. Cytol.* 5, 235, 1959.
- Salt G.: *Parasitology* 53, 527, 1963.
- Salt G.: *Cambridge Monogr. Exp. Biol.* 15, 1970.
- Schmit A. R., Ratcliffe N. A.: *J. Insect Physiol.* 23, 175, 1977.
- Schmit A. R., Rowley A. F., Ratcliffe N. A.: *J. Invert. Pathol.* 29, 232, 1977.
- Shin Y. T., Thomson J. A.: *Insect Biochem.* 1, 56, 1971.
- Söderhäll K.: *Dev. Comp. Immunol.* 5, 565, 1981.
- Söderhäll K.: *Dev. Comp. Immunol.* 6, 601, 1982.
- Söderhäll K., Ajaron R.: *J. Invert. Pathol.* 39, x, 1982.
- Stephens J. M.: *Can. J. Microbiol.* 8, 597, 1962.
- Stunen D., Peferoen M., de Loof A.: *J. Insect Physiol.* 28, 465, 1987.
- Taylor R. L.: *J. Invert. Pathol.* 14, 427, 1969.
- Tsukamoto T., Ishiguro M., Funatsu M.: *Insect Biochem.* 16, 573, 1986.
- Unestam T., Söderhäll N.: *Nature, Lond.* 267, 45, 1977.
- Yoshida H., Ashida M.: *Insect Biochem.* 16, 539, 1986.
- Ziprin R. L.: *J. Invert. Pathol.* 32, 396, 1978.

Adres autora: prof. dr habil. Zdzisław Gliški, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

KONDO F., TATCYAMA S.: In vitro aktywność chloropolisporyny C nowego antybiotyku z grupy glikopeptydów na izolaty *Clostridium perfringens*. Wpływ in vitro tego antybiotyku na *C. perfringens* i bakterie jelita ślepego kurcząt brojlerów. (In vitro activity of chloropolysporin C, a new glycopeptide-group antibiotic, on *Clostridium perfringens* isolates and its in vitro activity against *C. perfringens* and other intestinal microflora of the coeca of broiler chickens). *Res. vet. Sci.* 48, 175–179, 1990 (2)

Przebadano in vitro wpływ chloropolisporyny C — antybiotyku z grupy polipeptydów na 88 szczepów *Clostridium perfringens* wyizolowanych z przypadków zmartwiającego zapalenia jelit kurcząt w Japonii. Do badań porównawczych włączono avoparcin, wankomycynę i thiopeptin. Wartość MIC oznaczono metodą rozcieńczeń antybiotyku w podłożu stałym. Wartość MIC chloropolisporyny C dla 96% szczepów *C. perfringens* wynosiła 0,025–0,20 µg/ml, dla 4 szczepów 1,56–6,25 µg/ml. Natomiast wartość MIC dla avoparcin wynosiła 0,05–6,25 µg/ml, dla wankomycyny 0,1–6,25 µg/ml i dla thiopeptin 0,025–3,31 µg/ml. Podawanie antybiotyku kurczętom brojlerom przez okres 28 dni w dawce 5, 10 lub 20 ppm jako dodatku do karmy w przypadku chloropolisporyny i w dawce 10 ppm w przypadku avoparcinu nie wywierało ujemnego wpływu na stan zdrowia kurcząt. Chloropolisporyna obniżała liczbę żywych komórek *Clostridium* w kale oraz liczbę tlenowych i beztlenowych bakterii gram dodatnich, nie wpływając jednakże na ogólną ilość bakterii w treści jelitowej.